

Biološka varnost gensko spremenjene hrane

Branka Javornik

- 5. Vrednotenja biološke varnosti “gensko spremenjene hrane”
- 5.1 Stvarna enakovrednost živil
- 5.2 Analiza sestavin živil
- 5.3 Vrednotenje toksičnosti novih beljakovin
- 5.4 Vrednotenje alergenosti živil
- 5.5 Viri

GENSKO SPREMENJENA HRANA

B. Bohanec, B. Javornik, B. Strel

© 2004, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta. Vse pravice pridržane

5 Vrednotenja biološke varnosti “gensko spremenjene hrane”

Po predpisih Evropske unije je »gensko spremenjena hrana« uvrščena med nova živila, med tista živila in dodatke k živilom, ki so uporabljeni v prehrani prebivalcev EU le krajše časovno obdobje. Po definiciji, uveljavljeni v Evropski uniji za tako spremenjeno hrano opredeljujemo:

- živila ali dodatke, ki vsebujejo ali so sestavljeni iz gensko spremenjenih organizmov,
- živila ali dodatke, ki so proizvedeni iz gensko spremenjenih organizmov.

Pred uporabo gensko spremenjenih živil v prehrani je potrebno predhodno ovrednotiti morebitne škodljive vplive na zdravje ljudi in živali ter okolje. Presoja tveganja je primarno usmerjena na vrednotenje proteinov, kodiranih s transgeni, in produktov, ki so nastali kot posledica izraženih proteinov. Transgeni oziroma na novo vključene nukleinske kisline (DNA ali RNA) same po sebi niso predmet presoje tveganja, ker so splošno prepoznane kot varne snovi v prehrani. Geni ali nukleinske kisline so namreč sestavni del vseh živil (meso, žita, sadje, zelenjava), ki jih uporabljamo v prehrani že tisočletja.

Gensko spremenjena hrana je deležna veliko kritike in pričakovanja s strani potrošnikov glede varnosti GS hrane so veliko višja kot za druga tradicionalna živila. Zato so za presajo biološke varnosti GS živil postavljene veliko višje norme in zahtevnejši postopki vrednotenja kot za katerakoli druga živila. Tako je presoja tveganja uporabe gensko spremenjene hrane kompleksen in dinamičen proces, ki se neprekinjeno dograjuje in izpopolnjuje glede na pridobljene izkušnje in tehnične zmožnosti analize živil.

5.1 Stvarna enakovrednost živil

Presoja biološke varnosti GS rastline oziroma iz nje predelanega živila se mora izvajati posamezno, od primera do primera, pri čemer se vrši primerjava lastnosti GS rastline oz. živila z že obstoječo rastlino oz. živilom, za katerega nam je poznana dolgoletna varna uporaba v prehrani. Takšen pristop, osnovan na konceptu *stvarne enakovrednosti*, identificira potencialne razlike med GS živilom in konvencionalnim, enakim živilom in te razlike se nadalje ovrednotijo glede na potencialno možne prehranske posledice za konzumenta. Koncept stvarne enakovrednosti je razvil OECD in je sprejet s strani FAO/WHO ter upoštevan v večini nacionalnih zakonodaj, čeprav ima nekatere pomanjkljivosti. Stvarna enakovrednost še ni ocena varnosti živila sama po sebi, pač pa je to prva stopnja primerjave pri ocenjevanju varne uporabe novega živila v primerjavi z že obstoječim živilom. Primerjava je lahko preprosta ali pa zelo dolgotrajna, odvisna od narave živila v obravnavi.

Osnovna analiza za ugotavljanje stvarne enakovrednosti je primerjava molekulskih, morfoloških in agronomskih lastnosti gensko spremenjene

rastline in njenih produktov ter analiza ključnih hranil in naravnih toksičnih substanc. Primerjalni pristop vrednotenja enakovrednosti GS rastlin in živil lahko vodi do treh možnosti:

1. GS rastlina ali živilo, pridobljeno iz nje, je stvarno enakovredno konvencionalnemu živilu, ki se že uporablja v prehrani. V takšnem primeru, ko je ocenjena enakovrednost med GS produktom in tradicionalnim ekvivalentom z dolgoletno varno uporabo v prehrani, ni potrebno dodatnih testiranj. Takšen primer je škrob iz GS krompirja ali olje iz GS oljne ogrščice, če ne vsebujeta določljive DNA oziroma proteina, ki izvira iz genske modifikacije.
2. GS rastlina ali živilo, pridobljeno iz nje, je stvarno enakovredno konvencionalnemu živilu, ki se že uporablja v prehrani, razen v določenih definiranih razlikah. V tem primeru so ugotovljene razlike posledica genske modifikacije oziroma nove lastnosti v rastlini in nadaljna testiranja se osredotočijo na vrednotenje te nove lastnosti oziroma proteina, na primer insekticidni (Bt) protein v koruzi. Testi ugotavljanja tveganja vključujejo toksikološke teste glede na karakteristike in biološko vlogo novega proteina. Nadalje se ugotavljajo in vrednotijo nenamerni učinki, morebitni genski transfer iz GS hrane v črevesne bakterije, potencialna alergnost novega proteina, vplivi predelave hrane na novo živilo ter pomen novega živila v prehrani. GS hrana, ki sodi v to skupino, je na primer genško spremenjena soja in sojini dodatki ali GS koruza.
3. GS rastlina ali živilo, pridobljeno iz nje, nima stvarne enakovrednosti s konvencionalnim živilom, ki se že uporablja v prehrani. To bi bilo živilo ali izdelek, za katerega ni na razpolago tradicionalnega ekvivalenta ali pa ni na razpolago ustreznih referenčnih podatkov, potrebnih za primerjavo. Takšno živilo mora biti ovrednoteno po posameznem primeru in v skladu z zahtevami za oceno biološke varnosti novih živil.

Pri ugotavljanju stvarne enakovrednosti je potrebno pozornost usmeriti v izbiro primerjalnega ekvivalenta, tako da GS rastline primerjamo z genotipsko čimbolj izenačenimi linijami ter s sortami iste kmetijske rastline, ki so že v splošni uporabi. Prav tako morajo biti izenačeni pogoji poljskih poskusov med obema primerjanima rastlinama in izvedeni na način, ki omogoča ustrezno statistično izvrednotenje. Rezultati primerjave predvsem za komponente ključnih hranil ter naravnih toksičnih in antinutricističnih substanc se lahko razlikujejo v območjih, ki jih stroka določi kot naravne meje variabilnosti posameznih parametrov. Primerjava identificira namerne in nenamerne razlike med živilu, ki so nato osrednji predmet nadaljne presoje tveganja.

Namerne spremembe med GS rastlino in ne-transgenim ekvivalentom so rezultat genske modifikacije, torej spremembe določene lastnosti in se določajo z merjenjem posamezne komponente - novega proteina, kodiranega s transgenom – ter z analizo mikro in makro hranil. Genske modifikacije pa lahko rezultirajo tudi v nenamernih učinkih in se zaznajo na fenotipu (izgledu) rastline, na primer kot spremembe v rasti in razvoju ali kot zmanjšana toleranca na stresne dejavnike okolja, torej učinki, ki so dobro zaznavni in se lahko odstranijo med procesom selekcije. Nenamerni učinki, kot so na primer spremembe v koncentraciji ključnih hranil ali porast količine naravnih toksičnih substanc, sekundarnih metabolitov ali antinutricističnih komponent, se bodo ugotovili pri analizi ključnih sestavin živila in s temi podatki bo mogoče nadaljnje vrednotenje vplivov takšnih sprememb na varnost hrane. Z razvojem novejših metod na področju genomike, proteomike in metabolike pa je omogočena globalna analiza komponent na ravni genskega materiala (DNA), izražanja genov (RNA), vsebnosti vseh proteinov ali specifičnih metabolitov. Te metode bistveno povečujejo verjetnost odkrivanja nenamernih sprememb v metabolizmu rastline in omogočajo natančnejše nadaljnje presoje varnosti obravnavanega živila.

Ob presoji biološke varnosti gensko spremenjenih rastlin in njihovih produktov za prehrano upoštevamo pri vrednotenju vrsto podatkov, pridobljenih iz osnovnih botaničnih in agronomskih karakteristik organizmov, vključenih v gensko modifikacijo, molekularnih analiz transgena in genske spremembe, iz analize ključnih sestavin, analize toksičnosti in alergnosti produkta transgena, drugih metabolitov in celotne GS rastline, vplivov predelovanega procesa na živilo in ocene potencialnih dolgoročnih vplivov na prehrano. V nekaterih primerih se bo izkazala potreba po *in vivo* prehranskih testih GS rastlin ali živila v celoti. Pri takšnih testih so opozorila glede načrtovanja eksperimenta in interpretacije rezultatov ter potrebe, da se izvajajo vzporedno s toksikološkimi testi posameznih komponent.

5.2 Analiza sestavin živil

Pri vrednotenju stvarne enakovrednosti GS živila z nemodificiranim ekvivalentom je zelo pomembna analiza sestavin v živilu in primerjava njihovih vrednosti. Določijo se kritične komponente z analizo ključnih hranil in toksičnih substanc. Analiza širšega spektra komponent na splošno ni potrebna, vendar lahko pride v poštev v primeru, če katera izmed analiziranih komponent nakazuje na možnost nenamernih učinkov genske modifikacije.

Ključna hranila so tiste sestavine živila, ki so pomembne za prehrano. Med glavne komponente vključujemo beljakovine, maščobe in ogljikohidrate, minerale ter vitamine.

V analizi sestavin izberemo tiste minerale in vitamine, ki specifično prispevajo k hranilni vrednosti živila. Poleg vsebnosti glavnih sestavin se na primer pri živilih, ki so pomemben vir beljakovin, analizira tudi njihova aminokislinska sestava ali pri oljnicah profil maščobnih kislin.

Ključne toksične komponente so značilne strupene komponente, ki so naravno prisotne v določenih rastlinskih vrstah in katerih toksičnost lahko značilno vpliva na zdravje ljudi. Takšen primer je visoka vsebnost solanina v krompirju ali selena v pšenici.

V rastlinah so naravno prisotni tudi inhibitorji nekaterih prebavnih encimov, ki imajo antinutricijske učinke, veliko živil vsebuje tudi alergene snovi.

V primeru ugotovljenih razlik med GS živilom in primerjalnim živilom v vsebnosti ključnih, toksičnih in drugih komponent, razen v pričakovanih namernih učinkih, je potrebno nadaljevati z analiziranjem metabolnih in toksikoloških učinkov, ki bi jih morebiti povzročile te spremembe. V nasprotnem primeru, kadar pri primerjavi ni razlik v vsebnosti analiziranih komponent, je moč sklepati o stvarni enakovrednosti obeh živil glede vsebnosti hranilnih in toksičnih sestavin.

5.3 Vrednotenje toksičnosti novih beljakovin

Ob ugotovljeni enakovrednosti med živiloma so prisotne definirane razlike, ki so posledica genske modifikacije; torej nameravan učinek vključenega(ih) gena(ov). Transgeni pogojujejo sintezo enega ali več proteinov, kateri lahko vplivajo na druge (endogene) rastlinske komponente ali pa so nova vrsta beljakovin v živilu. Presoja tveganja je primarno usmerjena na vrednotenje proteinov kodiranih s transgeni in produktov, ki so nastali kot posledica izraženih proteinov (maščobne kisline, ogljikohidrati in modificirane ali nove molekule drugih komponent). Vrednotenje novih proteinov je osredotočeno na njihovo strukturo, funkcijo in specifičnost ter preteklo uporabo v prehrani.

Beljakovine so naravna sestavina v hrani in neizogibno potrebne komponente v prehrani zaradi vsebnosti esencialnih aminokislin, ki jih ljudje in nekatere živali morajo dobiti s hrano. Za beljakovine je značilno, da običajno niso toksične, niso mutagene ali karcinogene, v prebavnem traktu se večinoma razgradijo s presnovo in se ne nalagajo v bioloških tkivih kot nekatere kemikalije. Poznani so sicer nekateri toksični proteini, vendar so visoko specifični in dobro karakterizirani. Proteini se razgradijo s proteazami v kislih sokovih želodca do mešanice peptidov in aminokislin, ki so tudi stimulatorji v prebavi. Nadaljna proteoliza poteka v črevesju pri nevtralnem pH z delovanjem encimov, multiplih proteaz z različnimi specifičnostmi. Proteini se v črevesju absorbirajo kot razgradni produkti v obliki peptidov in aminokislin. V živilih je poznanih tisoče različnih beljakovin, k njihovi raznolikosti pa prispeva tudi proteinski polimorfizem (različni aleli istega lokusa), post-translacijske modifikacije (glikolizacija ali metilacija) in druge spremembe.

Proteine, ki se po svoji funkciji in strukturi razlikujejo od proteinov, ki so varni s stališča prehrane, je potrebno ovrednotiti glede njihove možne toksičnosti ali alergnosti. Pri vrednotenju morebitnih škodljivih vplivov novih beljakovin v živilu, sintetiziranih zaradi genske spremembe rastline, se obravnava vsak primer posebej. Novo beljakovino se ovrednoti glede na

osnovni izvor transgena, biološke aktivnosti ter preteklo uporabo v prehrani. Če sta GS rastlina in nov protein že znana v prehrani kot varna, večinoma niso potrebni specifični toksikološki testi. Prehransko varnost novega proteina se ugotovi na osnovi molekularnih in biokemijskih lastnosti, podobnosti v aminokislinskem zaporedju z znanimi proteinskimi strupi, z *in vitro* proteolitično razgradnjo v simuliranih pogojih in z *in vitro* testi za ugotavljanje toksičnosti za sesalce. Za presojo tveganja varnosti proteina je pomembna njegova biološka aktivnost. Nov encim, ki opravlja podobno vlogo kot endogen, rastlinski encim, se obravnava na podoben način kot endogen encim. Drugače je pri proteinih, ki imajo pesticidno aktivnost, kot na primer Bt-proteini. Pri takšnih proteinih je potrebno poznavanje njihove specifičnosti za ciljne organizme in način njihovega delovanja. Z *in vitro* testi se lahko dokaže vezava Bt-proteina na črevesne celice insekta, katerih pa ni zaznati v primeru celic sesalca. Nekatere skupine proteinov zahtevajo še dodatno presojo zaradi svoje funkcije, kot na primer proteazni inhibitorji, ki imajo antinutricistične učinke.

Novi proteini, ki so vključeni v GS živilo, so lahko encimi, ki spremenijo običajno sintezo nekaterih hranil, kot na primer razmerje amiloze in amilopektina in razvejanost amilopektina v škrobu ali sestavo maščobnih kislin v olju. V primeru, da genska modifikacija povzroči spremembo v prehranski in fiziološki vlogi živila, so seveda postavljene določene omejitve. Spremenjen škrob v krompirju z zelo nizko vsebnostjo amiloze je primeren izključno za ekstrakcijo škroba iz krompirja in ta krompir ni namenjen za običajno uporabo v prehrani.

5.4 Vrednotenje alergenosti živil

Alergija je škodljiva reakcija na običajno neškodljivo hrano ali sestavine živila, ki povzroči imunsko obrambo telesa na sestavino(e) v hrani s sintezo specifičnih protiteles (IgE). Alergična reakcija na hrano se pojavi v nekaj minutah do nekaj ur po zaužitju hrane. Pri zelo občutljivih osebah se lahko takšna reakcija pojavi že ob zelo majhnih količinah prisotne alergene snovi. Do sedaj še ni na razpolago zdravil za učinkovanje proti alergijam. Osebe z alergijami na določene vrste hrane se morajo izogibati takšni hrani, pri čemer jim pomaga ustrezno označevanje.

Okoli 30% ljudi verjeme, da so alergični na določeno hrano, vendar so raziskave pokazale, da ima alergijo na hrano dejansko okoli 2% ljudi. Pri otrocih je ta odstotek nekoliko višji (okoli 5%), vendar se z odraščanjem zmanjšuje. Alergijo lahko povzroči katerakoli hrana oz. njene sestavine, med najpogostejšimi živila, ki povzročajo alergijo, so uvrščene predvsem ribe, mehkužci, soja, mleko, jajca, oreški in semena, žita, korenček, paprika, jagode, jabolka itd.

Skoraj vsi alergeni v hrani so po kemični sestavi proteini. Ali lahko nek protein povzroči alergeno reakcijo, je težko napovedati, ker je alergija odraz specifične interakcije med proteinom in občutljivo osebo. V rastlinah imamo

tisoče različnih proteinov in večina od njih je glede na dolgoletne izkušnje varna za prehrano. S klasičnim žlahtnjenjem lahko vnesemo veliko novih, nepoznanih proteinov v kulturno sorto, posebno če uporabljamo oddaljene divje sorodnike v postopkih križanja. Količina in tudi vrsta proteinov je različna v različnih delih rastline, ta variabilnost proteinov pa zavisi tudi od agro-ekoloških pogojev pridelovanja rastline. Prav tako imajo lahko vpliv na pojav alergij na hrano načini prehranjevanja in dolgoletna uporaba posameznih živil v različnih delih ali regijah sveta. Na primer kivi, ki je nova vrsta sadja v severni Ameriki in Evropi, povzroča alergije pri relativno visokem odstotku ljudi, po zadnjih raziskavah pa je opažen visok porast te alergije pri otrocih.

Pri presoji tveganja za razvoj alergij na gensko spremenjene rastline je potrebno upoštevati sintezo novih proteinov, ki se lahko nahajajo v užitnih delih GS rastline ali v pelodu, ter morebitno povečano sintezo naravno prisotnih alergenov v rastlini zaradi nenamernih učinkov. Ker določitev sto odstotne alergenosti proteina zaradi genetske raznolikosti ljudi v izražanju alergičnih reakcij ni mogoča, je potrebno v procesu presoje tveganja pridobiti čimveč relevantnih podatkov, ki bodo služili za ovrednotenje proteina. Podatki se nanašajo na izvor vnešenih genskih segmentov z ugotavljanjem ali ima izvorni organizem znane alergene. Nato se najprej obravnava kemijske in biokemijske lastnosti novega proteina, predvsem stabilnost proteolitične razgradnje proteina ter strukturne podobnosti in podobnosti v zaporedju aminokislin z znanimi alergeni. Te analize se v zadnjem obdobju ustrezno izpopolnjujejo na osnovi novih znanj s področja strukturne biologije in bioinformatike in nudijo dobre osnove za ocenjevanje potencialne alergenosti. V drugi stopnji presoje alergenega potenciala proteina se izvajajo *in vitro* alergološki testi z uporabo seruma posameznikov z znanimi alergijami. Izbira seruma ali pridobivanje novih serumov za alergološke teste je lahko problematična zaradi njihovega pomanjkanja in ustrezne specifičnosti za obravnavane proteine.

Vrednotenje biološke varnosti "gensko spremenjene hrane" in ocena možnih škodljivih vplivov na zdravje ljudi pred širšo uporabo morata dati zadostna zagotovila, da takšna hrana ne bo povzročila škode konzumentom. V grobem so opisani glavni pristopi, ki tvorijo natančnejša navodila za ocenjevanje in vrednotenje biološke varnosti hrane, pridobljene iz gensko spremenjenih rastlin. Sedaj se uveljavljajo tudi ocenjevanje in spremljanje gensko spremenjene hrane po pridobljenem dovoljenju za trženje, z namenom pridobivanja dodatnih informacij, ki bi lahko bolje osvetlile eventualne vplive gensko spremenjene hrane na zdravje ljudi v daljših časovnih obdobjih.

5.5 Viri

Codex Alimentarius (2003) Codex Principles and Guidelines on Foods from Biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rim. <ftp://ftp.fao.org/codex/standard/en/CodexTextBiotechFoods.pdf>

FAO/WHO (1996) Biotechnology and Food Safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. FAO Food and Nutrition Paper 61. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rim. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotechnology.pdf>

EFSA (2004) Draft guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. Scientific Panel on Genetically Modified Organisms, European Food Safety Authority, Bruselj. http://www.efsa.eu.int/consultation/372/consultation_guidance_gmo_01_en1.pdf

Kuiper HA, Kleter GA, Noteborn HPJM, Kok EJ (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant Journal* 27:503-528.

OECD (1993) Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology. Organization for Economic Cooperation and Development, Pariz. <http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf>

OECD (2004) Consensus Documents for the Work on the Safety of Novel Foods and Feed. Task Force for the Safety of Novel Foods and Feed, Organization for Economic Cooperation and Development, Pariz. http://www.oecd.org/document/9/0,2340,en_2649_34391_1812041_1_1_1_1,00.html